

Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.
11. Jg. 1973, S. 107—113

Untersuchungen zur Vergleichbarkeit von Quickwerten¹⁾

Von K. JAROSCHIK und S. NÄGLE

*Klinisch-Chemische Abteilung der Chirurgischen Universitätsklinik und Poliklinik
(Direktor: Prof. Dr. E. Kern) Würzburg*

(Eingegangen am 20. September/16. November 1972)

Vier kommerzielle Thromboplastin-Präparate und Normalplasmen wurden in den 16 möglichen Kombinationen auf ihr Gerinnungsverhalten bei der Thromboplastinzeitbestimmung untersucht. Es wurde gefunden, daß die Beziehung zwischen Thromboplastinzeit Δt und Verdünnungsgrad der Plasmen N durch die Gleichung $\Delta t = a + b \ln N/(N - \Delta N)$ beschrieben werden kann. Das Gesamtgerinnungsverhalten ist hiernach durch eine MICHAELIS-MENTEN-Kinetik zu charakterisieren.

Die Quickwertbestimmung für gleiche Plasmen bzw. Plasmaverdünnungen mittels verschiedener Thrombokinasen führt zu aus der Praxis bekannten, mangelhaft übereinstimmenden Resultaten. Als Hauptursache ist die methodisch bedingte Fehlerbreite bei der Festlegung des 100%-Wertes der Eichplasmen herauszustellen. Sie resultiert aus der Wahrscheinlichkeitsverteilung der apparativ gegebenen Zeitmeßfehler.

Im Hinblick auf die Problematik einer Standardisierung der Quickwertbestimmung ist von Interesse, daß die Übereinstimmung der Resultate bei Zugrundelegen eines für alle verbindlichen Eichplasmas unabhängig vom eingesetzten Thromboplastin-Präparat entscheidend verbessert werden kann.

Studies on the comparability of values from the "QUICK" test determination

The sixteen possible combinations of four commercial thromboplastin reagents and normal plasma preparations have been assayed as to their clotting properties. It could be shown that the prothrombin time Δt and the degree of dilution N correspond according to the equation $\Delta t = a + b \ln N/(N - \Delta N)$; the time course of coagulation therefore follows MICHAELIS MENTEN kinetics.

"QUICK" test determinations by means of various thromboplastin reagents give poorly reproducible results which are known to be typical of those obtained in daily routine work. This was shown to be mainly caused by the uncertainty in defining a 100% activity, due to the methodical error in the measurement of the prothrombin time.

As to the difficulties of standardization in the "QUICK" test it should be noted that despite the use of different thromboplastin reagents, fairly good reproducibility can be obtained providing only one plasma is used for preparing the calibration curves.

Von den Methoden zur Erfassung pathologischer Veränderungen im Blutgerinnungssystem hat die Bestimmung der Thromboplastinzeit in der Ausführung und Wertbemessung nach QUICK große Bedeutung erlangt. Der weiten Verbreitung der Quickwertbestimmung entspricht nur dann eine allgemeingültige Aussagefähigkeit hinsichtlich Diagnose und Therapieüberwachung, wenn neben einer guten Präzision der Methode in ein und demselben Kliniklaboratorium auch die Vergleichbarkeit der Resultate verschiedener Laboratorien gesichert ist. In der Praxis werden jedoch selbst bei einheitlicher Arbeitsweise mit verschiedenen Thromboplastin-Präparaten und separat erstellten Eichkurven Ergebnisse erhalten, die in einem unvertretbaren Maß voneinander abweichen. Zwar können durch Korrelation von Quickwerten für gleiche Plasmen bei verschiedenen Thrombokinasen Umrechnungsfaktoren ermittelt werden (1), doch muß im Einzelfall angesichts der Streubreite dieser Faktoren die Aussagefähigkeit der Umrechnung vorsichtig interpretiert werden. Es erschien von Interesse, die Ursachen der mangelhaften Vergleichbarkeit der Quickwerte näher zu untersuchen. Hierzu wurden je vier kommerziell erhältliche Thromboplastin- und Plasma-Präparate als Untersuchungsmaterial herangezogen. Die Thromboplastinzeiten der möglichen Kombinationen zwischen

diesen Präparaten bieten vielfältige Beziehungs- und Berechnungsmöglichkeiten, über die und die daraus ableitbaren Folgerungen in der vorliegenden Arbeit berichtet werden soll.

Methoden und Material

Es wurden vier im Handel befindliche Normalplasma-Präparate in ihrem Gerinnungsverhalten gegenüber vier entsprechenden Thromboplastin-Präparaten untersucht. Die Tabelle 1 vermittelt einen Überblick über die Spezifizierung und die Hersteller der eingesetzten Präparate.

Von den vier Plasmen wurden mit physiol. NaCl-Lösung jeweils sechs Verdünnungen zu 100, 50, 30, 20, 15 und 10 ml Plasma/100 ml (%) hergestellt, deren Thromboplastinzeiten dann mit jedem der vier Thromboplastin-Präparate gemessen wurden. Bezüglich der Handhabung der Präparate wurde dabei jeweils den Empfehlungen der Hersteller entsprochen. Die Messung erfolgte immer in vierfacher Ansatz durch automatische Endpunktbestimmung mit einem Koagulometer nach SCHNITGER und GROSS.

Meßergebnisse

Die Thromboplastinzeiten für alle möglichen Kombinationen zwischen den Plasmen bzw. Plasmaverdünnungen $Pl_A - Pl_D$ und den Thromboplastin-Präparaten $Th_A - Th_D$ sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

¹⁾ Diese Arbeit ist als Dissertation (K. JAROSCHIK) an der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg vorgesehen.

Tab. 1
Zusammenstellung der bei den Untersuchungen eingesetzten Plasma- und Thromboplastin-Präparate

| Herstellung bzw. Vertrieb | Präparat | Charge | Charakterisierung | Abkürzung im Text |
|--|---|--------------------|--|-------------------|
| A Gödecke AG, Berlin | Simplastin | Lot No. 2683109 | Lyophilisiertes Thromboplastin aus Kaninchenhirn und -lunge | ThA |
| | Verify Normal | Lot No. 0494050 | Standard Humanplasma | PlA |
| B Behringwerke AG, Marburg | Ca-Thromboplastin | Op./Batch No. 356A | Hochgereinigtes Humanthromboplastin mit CaCl ₂ (Soll-Quickwert 90%) | ThB |
| | Standard-Human-Plasma | Op./Batch No. 7G | | PlB |
| C Hyland Div. Travenol Lab. Inc. Costa Mesa | Hyland-Thromboplastin gereinigt | Lot 0398 MO 28A1 | Kaninchenhirnextrakt | ThC |
| | Thromboplastin-Kontrolle | Lot 0471 MO 13A1 | Humanplasma getrocknet | PlC |
| D Dade Div. Amer. Hosp. Supply Corpor. Miami | Aktiviertes stabilisiertes Thromboplastin | Lot ALT-168A | Kaninchenhirnextrakt getrocknet | ThD |
| | Citrat-Normalplasma CNP | Lot No. CNP-31 | | PlD |

Jeder der vier Plasmaverdünnungsreihen entsprechen somit vier Ergebnisspalten mit den Mittelwerten der vier Einzelmessungen und den zugehörigen mittleren Fehlern der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$) und Variationskoeffizienten (VK).

Die Ergebnisse lassen eine für klinisch-chemische Meßmethoden ausreichend gute Präzision erkennen. Bleiben die Verdünnungen 10 ml Plasma/100 ml außer Betracht, so liegen die Variationskoeffizienten für die Vierergruppen fast ausnahmslos unter 3%. Das abweichende Verhalten der höchsten Verdünnungen, das bei den Kombinationen mit Th_D besonders ausgeprägt ist, kann unter Bezugnahme auf RASCHE und HIEMEYER (2) gedeutet werden. Nach diesen Autoren ist die Ermittlung der Thromboplastinzeit mit der Häkchenmethode bei hohen Verdünnungen unzuverlässig, weil als Folge der zu niedrigen Fibrinogenkonzentration die Fibrin- und damit die Fädchenbildung nicht mehr in gut reproduzierbarer Weise ablaufen soll.

Als Maß für die Reproduzierbarkeit der Mittelwerte \bar{x} in Tabelle 2 können die $\pm 2 s_{\bar{x}}$ -Grenzen herangezogen werden. Sie umfassen den Bereich, in dem in 95% der Fälle der Mittelwert aus vier Einzelmessungen zu erwarten ist. Im Mittel erhält man dann aus allen $s_{\bar{x}}$ -Werten (ohne Einbeziehen der 10 ml Plasma/100 ml Verdünnungen) diese Grenzen zu $\bar{x} \pm 0,449 s$, so daß der Vertrauensbereich sich durchschnittlich über $\Delta t = 0,9 s$ erstreckt.

Betrachtungen zur Kinetik

Von BIGGS und MACFAIRLANE (3) wurde 1949 darauf hingewiesen, daß man beim Auftragen der Thromboplastinzeiten gegen die reziproken Konzentrationen der Plasmaverdünnungen Geraden erhält. Dem entspricht die von QUICK (4) herausgestellte hyperbolische Beziehung zwischen Thromboplastinzeit Δt und Verdünnungsgrad N der Plasmaverdünnungsreihe. Sie läßt sich durch

$$(\Delta t - a) \cdot N = b$$

beschreiben und führt in einer $\Delta t - 1/N$ -Abhängigkeit zur Geraden

$$\Delta t = a + b (1/N) \quad (\text{Gl. 1}).$$

Von HEMKER et al. (5) wurde die lineare Beziehung zwischen Δt und $1/N$ bestätigt und als Ausdruck einer zugrunde liegenden MICHAELIS-MENTEN-Kinetik gedeutet. Dabei wurde auf eine Proportionalität zwischen Verdünnungsgrad N und Substratkonzentration S sowie zwischen Prothrombinzeit Δt und reziproker Geschwindigkeit $1/v$ hingewiesen. Entsprechend einer Linearität im LINEWEAVER-BURK-Plot ($1/v$ gegen $1/S$) könne die experimentell gefundene lineare Beziehung zwischen Δt und $1/N$ als Folge einer MICHAELIS-MENTEN-Kinetik interpretiert werden. Ausgehend von unseren Meßwerten und durch weitere theoretische Überlegungen werden die vorgetragenen Zusammenhänge einer ergänzenden Betrachtung zugänglich.

Für die Kombinationen zwischen den vier Plasmaverdünnungsreihen und den vier Thromboplastin-Präparaten (Tab. 2) wurden die jeweiligen Regressionsgeraden der Wertpaare Δt ; $1/N$ ermittelt. Da bei den einzelnen Verdünnungsgraden jeder Reihe immer vier Werte vorliegen, konnte unter Berücksichtigung der Streuung der zugehörigen Mittelwerte die Korrelation zwischen Δt und $1/N$ in jedem Fall auf signifikante Abweichung von der Linearität geprüft werden (Regression erster Art bei gruppierten Stichproben (6)). Die Tabelle 3 präsentiert die Ergebnisse dieser Signifikanzprüfung zusammen mit den Parametern für die einzelnen Regressionsgeraden. Daraus geht hervor, daß für Th_C gegenüber allen Plasmen und für Th_D gegenüber Pl_A und Pl_B ein Abweichen von der Linearität nicht nachweisbar war. Für alle übrigen Pl/Th-Kombinationen ist eine nicht-lineare Beziehung zwischen Δt und $1/N$ mit $2p < 0,05$ gesichert. Der experimentelle Ausgangspunkt zu den kinetischen Folgerungen oben zitierter Autoren wird somit durch unsere Befunde mit hinreichender Irrtumswahrscheinlichkeit in Frage gestellt.

Trotz der gesicherten Abweichung von der Linearität gibt jedoch die Regressionsgerade $\Delta t = a + b (1/N)$ eine für klinische Zwecke befriedigende Beschreibung der funktionellen Abhängigkeit zwischen Δt und N . Das gilt vor allem für den therapeutisch interessanten Bereich von $N = 50\%$ bis $N = 15\%$. Errechnet man nämlich mit den Thromboplastinzeiten Δt (Tab. 2)

Tab. 2

Thromboplastinzeiten und statistische Parameter für alle möglichen Kombinationen zwischen den Plasmen bzw. Plasmapverdünnungen (PI) und den Thromboplastin-Präparaten (Th)

\bar{x} = Mittelwert für die Thromboplastinzeit aus vier Einzelmessungen; $s_{\bar{x}}$ = mittlerer Fehler des Mittelwertes; VK = Variationskoeffizient in %; PI A-D bzw. Th A-D bezeichnen die Plasmen bzw. Thromboplastin-Präparate nach Tabelle 1; N gibt den Verdünnungsgrad der Plasmen in %, wobei für PI B mit 0,9 zu multiplizieren ist, um den Soll-Quickwert (nach Begleitprospekt) der PI B-Verdünnungen zu erhalten

| Plasmapverdünnung | | | Plasma PI A | | | | Plasma PI B | | | |
|-------------------|-----|---------------|-------------|--------|--------|--------|-------------|--------|--------|--------|
| Nr. | N % | | Th A | Th B | Th C | Th D | Th A | Th B | Th C | Th D |
| 1 | 100 | \bar{x} | 12,775 | 16,05 | 11,80 | 11,525 | 14,75 | 17,225 | 14,3 | 13,95 |
| | | $s_{\bar{x}}$ | 0,160 | 0,087 | 0,227 | 0,184 | 0,150 | 0,131 | 0,147 | 0,064 |
| | | VK | 2,506 | 1,079 | 3,853 | 3,198 | 2,034 | 1,527 | 2,059 | 0,925 |
| 2 | 50 | \bar{x} | 15,625 | 19,65 | 14,25 | 13,525 | 17,6 | 22,925 | 16,575 | 16,00 |
| | | $s_{\bar{x}}$ | 0,201 | 0,150 | 0,307 | 0,095 | 0,212 | 0,214 | 0,368 | 0,147 |
| | | VK | 2,580 | 1,572 | 4,307 | 1,400 | 2,411 | 1,863 | 4,444 | 1,840 |
| 3 | 30 | \bar{x} | 18,625 | 24,35 | 17,775 | 16,35 | 21,35 | 30,525 | 21,525 | 20,425 |
| | | $s_{\bar{x}}$ | 0,131 | 0,206 | 0,149 | 0,202 | 0,119 | 0,149 | 0,163 | 0,197 |
| | | VK | 1,412 | 1,639 | 1,680 | 2,472 | 1,115 | 0,978 | 2,439 | 1,933 |
| 4 | 20 | \bar{x} | 21,875 | 30,05 | 21,975 | 20,3 | 26,1 | 39,275 | 27,8 | 25,675 |
| | | $s_{\bar{x}}$ | 0,138 | 0,272 | 0,131 | 0,271 | 0,141 | 0,249 | 0,248 | 0,582 |
| | | VK | 1,529 | 1,813 | 1,197 | 2,668 | 1,084 | 1,271 | 1,787 | 4,534 |
| 5 | 15 | \bar{x} | 24,65 | 35,15 | 26,2 | 24,5 | 30,025 | 47,1 | 33,25 | 31,9 |
| | | $s_{\bar{x}}$ | 0,149 | 0,247 | 0,303 | 0,100 | 0,144 | 0,141 | 0,312 | 0,114 |
| | | VK | 1,507 | 1,403 | 2,311 | 0,816 | 0,957 | 0,601 | 1,878 | 2,095 |
| 6 | 10 | \bar{x} | 31,275 | 44,725 | 34,575 | 32,175 | 37,825 | 61,05 | 44,975 | 46,3 |
| | | $s_{\bar{x}}$ | 0,189 | 0,382 | 0,284 | 0,256 | 0,063 | 0,517 | 0,229 | 1,030 |
| | | VK | 1,207 | 1,706 | 1,642 | 1,592 | 0,333 | 1,649 | 1,017 | 4,451 |

| Plasmapverdünnung | | | Plasma PI C | | | | Plasma PI D | | | |
|-------------------|-----|---------------|-------------|--------|--------|--------|-------------|--------|--------|--------|
| Nr. | N % | | Th A | Th B | Th C | Th D | Th A | Th B | Th C | Th D |
| 1 | 100 | \bar{x} | 13,5 | 15,525 | 14,125 | 13,025 | 13,375 | 16,675 | 13,175 | |
| | | $s_{\bar{x}}$ | 0,071 | 0,075 | 0,229 | 0,085 | 0,063 | 0,149 | 0,111 | |
| | | VK | 1,049 | 0,996 | 3,238 | 1,311 | 0,941 | 1,791 | 1,638 | |
| 2 | 50 | \bar{x} | 17,05 | 22,45 | 17,375 | 15,95 | 17,0 | 21,625 | 16,65 | 15,60 |
| | | $s_{\bar{x}}$ | 0,050 | 0,272 | 0,317 | 0,352 | 0,071 | 0,085 | 0,202 | 0,204 |
| | | VK | 0,587 | 2,424 | 3,651 | 4,418 | 0,832 | 0,790 | 2,427 | 2,617 |
| 3 | 30 | \bar{x} | 20,925 | 29,75 | 22,5 | | 20,5 | 27,475 | 21,2 | 19,875 |
| | | $s_{\bar{x}}$ | 0,103 | 0,253 | 0,404 | | 0,041 | 0,175 | 0,268 | 0,397 |
| | | VK | 0,985 | 1,703 | 3,545 | | 0,398 | 1,274 | 2,526 | 3,991 |
| 4 | 20 | \bar{x} | 25,4 | 38,9 | 28,225 | 25,7 | 24,875 | 33,95 | 26,925 | 26,425 |
| | | $s_{\bar{x}}$ | 0,108 | 0,248 | 0,111 | 0,521 | 0,368 | 0,250 | 0,301 | 0,229 |
| | | VK | 0,850 | 1,227 | 0,786 | 4,056 | 2,961 | 1,473 | 2,326 | 1,731 |
| 5 | 15 | \bar{x} | 29,25 | 46,225 | 34,375 | 31,9 | 29,0 | 41,5 | 33,675 | 32,9 |
| | | $s_{\bar{x}}$ | 0,096 | 0,266 | 0,236 | 0,483 | 0,071 | 0,337 | 0,375 | 0,654 |
| | | VK | 0,655 | 1,150 | 1,327 | 3,029 | 0,488 | 1,622 | 2,227 | 3,979 |
| 6 | 10 | \bar{x} | 34,9 | 62,725 | | 52,125 | 36,8 | 53,05 | 47,7 | 55,4 |
| | | $s_{\bar{x}}$ | 2,581 | 0,778 | | 2,514 | 0,158 | 0,466 | 1,424 | 3,445 |
| | | VK | 14,795 | 2,481 | | 9,646 | 0,859 | 1,758 | 5,969 | 12,474 |

nach den Regressionsgeraden die %-Werte der Verdünnungen nach $N = b/(\Delta t - a)$, so findet man im genannten Bereich 50–15% die Abweichung zwischen errechneten Werten und Sollwerten in allen Fällen kleiner als 5% des jeweiligen Sollwertes. Eine in üblicher Weise als Eichkurve gewonnene Δt -N-Abhängigkeit ist hiernach als Regressionsgerade nach Gl. 1 darstellbar und kann, vor allem wenn ein programmierbarer Tischrechner verfügbar ist, die Quick-

wertermittlung zur Therapiekontrolle erleichtern und vereinfachen.

Abgesehen von dieser für praktische Zwecke ausreichenden Gültigkeit der Beziehung $\Delta t = a + b(1/N)$ muß aber die statistisch nachweisbare Abweichung von der Linearität hervor gehoben werden, da ihr im Hinblick auf die Kinetik prinzipielle Bedeutung zukommt.

Wird für den Gerinnungsablauf bei der Quickwertermittlung eine MICHAELIS-MENTEN-Kinetik vorausgesetzt, dann ist, wie nachfolgend gezeigt wird, keine Linearität zwischen Δt und $1/N$ zu

Tab. 3

Regressionsparameter zur Korrelation Δt gegen $1/N$ für die Verdünnungsreihen aus Tabelle 2 r = Korrelationskoeffizient; a und b sind Koeffizienten der Regressionsgeraden $y = a + bx$ entsprechend Gl. 1; $2p$ ist die Irrtumswahrscheinlichkeit für die Aussage: Δt und $1/N$ stehen nicht in linearer Beziehung (s. Text)

| | | ThA | ThB | ThC | ThD |
|-----------|-----|--------|--------|--------|--------|
| PIA (1—6) | r | 0,9978 | 0,9987 | 0,9999 | 0,9979 |
| | a | 11,45 | 13,44 | 9,26 | 8,91 |
| | b | 200,50 | 319,07 | 253,53 | 231,82 |
| | p | <0,05 | <0,05 | >0,05 | >0,05 |
| PIB (1—6) | r | 0,9986 | 0,9975 | 0,9993 | 0,9952 |
| | a | 12,62 | 13,57 | 10,22 | 8,85 |
| | b | 231,20 | 439,28 | 312,04 | 325,06 |
| | p | <0,05 | <0,05 | >0,05 | <0,05 |
| PIC (1—6) | r | 0,9981 | 0,9983 | 0,9986 | 0,9983 |
| | a | 11,71 | 11,85 | 6,95 | 6,88 |
| | b | 261,56 | 515,51 | 475,54 | 422,87 |
| | p | <0,05 | <0,05 | >0,05 | <0,05 |
| PID (1—6) | r | 0,9906 | 0,9980 | 0,9998 | 0,9993 |
| | a | 11,62 | 13,52 | 8,72 | 3,32 |
| | b | 256,55 | 404,10 | 382,13 | 495,05 |
| | p | <0,05 | <0,05 | >0,05 | >0,05 |

erwarten. Ausgehend von der Proportionalität zwischen Substratkonzentration S und Verdünnungsgrad N ist die MICHAELIS-MENTEN-Beziehung gegeben durch:

$$v = \frac{V_{\max} N}{K + N} = -dN/dt.$$

Nach Integrieren dieser Gleichung erhält man:

$$t = \frac{(N - N_t)}{V_{\max}} + \frac{K}{V_{\max}} \ln \frac{N}{N_t}.$$

Die Gleichung beschreibt die funktionelle Abhängigkeit zwischen N_t als Maß für die Substratkonzentration zur Zeit t nach Start der Reaktion zur Zeit $t = 0$ bei der Ausgangsverdünnung N . Nun erfaßt aber die Prothrombinzeit Δt einen stets gleichen, für die Fibrinausfällung und damit Fädchenbildung eben ausreichenden Substratumsatz ΔN . Berücksichtigt man also, daß $N - N_t = \Delta N$ bzw. daß $N_t = N - \Delta N$ zu setzen ist, so gilt für die Prothrombinzeit Δt die Gleichung:

$$\Delta t = \frac{\Delta N}{V_{\max}} + \frac{K}{V_{\max}} \ln \frac{N}{N - \Delta N} \quad (\text{Gl. 2}).$$

Die abgeleitete Beziehung (Gl. 2) zeigt, daß bei vorausgesetzter MICHAELIS-MENTEN-Kinetik die Prothrombinzeit Δt nicht mit $1/N$ sondern mit $\ln N/(N - \Delta N)$ linear korrelieren sollte. An den tatsächlichen Meßdaten ist diese Folgerung nur zu prüfen, wenn über ΔN eine verlässliche Aussage gemacht werden kann. Da normale Plasmen noch bei Verdünnungen < 10% gerinnen können, ist ΔN auf jeden Fall < 10% anzunehmen. Wir haben für die Plasma/Thromboplastin-Kombination PI_A/Th_A Δt mit $\ln N/(N - \Delta N)$ für mehrere $\Delta N < 10\%$ korreliert und in Tabelle 4 die Korrelationskoeffizienten in Abhängigkeit von ΔN dargestellt. Bei Vergleich mit den für die Korrelation Δt gegen $1/N$ erhaltenen Koeffizienten (Tab. 3) wird deutlich, daß keine Entscheidung für den einen oder anderen Auftragsmodus getroffen werden kann. Es ist jedoch daraus erkennbar, daß die befriedigende Korrelation Δt gegen $1/N$, fälschlich als Argument für eine MICHAELIS-MENTEN-Kinetik angeführt, auch nicht als Gegenargument dienen kann.

Tab. 4

Korrelation von Δt mit $\ln N/(N - \Delta N)$ bei $\Delta N < 10\%$ für Plasma/Thromboplastin-Kombination PI_A/Th_A

| ΔN (%) | 8 | 6 | 4 | 2 | 1 |
|----------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| r | 0,9658 | 0,9844 | 0,9922 | 0,9959 | 0,9970 |

Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit der Quickwerte

Die Thromboplastinzeiten der vier Plasmaverdünnungsreihen gegenüber je vier Thromboplastin-Präparaten ermöglichen eine Überprüfung der Reproduzierbarkeit bzw. der Vergleichbarkeit der daraus abgeleiteten Quickwerte. Hierzu können die Meßdaten der Tabelle 2 als Ergebnisse von vier Untersuchern A, B, C und D aufgefaßt werden, die je mit nur einem Thromboplastin-Präparat arbeiten (A mit Th_A ... usw.). Für die Quickwertermittlung bieten sich dann verschiedene Auswertmöglichkeiten, wovon zwei, hier als Modus I bzw. Modus II bezeichnet, näher betrachtet werden sollen.

Auswertung nach Modus I

Für A, B, C und D dienen die gleichnamigen Plasmen als Normalplasmen zur Erstellung der Eichkurve (PI_A/Th_A für A, PI_B/Th_B für B usw.). Mit Hilfe dieser Eichkurven werden in üblicher Weise aus den Thromboplastinzeiten für die jeweils unbekannten Plasmen bzw. Plasmaverdünnungen die Quickwerte graphisch ermittelt. Dieses Vorgehen entspricht der Routinepraxis: in verschiedenen Laboratorien wird mit Thromboplastin-Präparaten unterschiedlicher Herkunft gearbeitet und als Normalplasma entweder ein kommerzielles Plasmapräparat oder ein selbstgewonnenes Poolplasma normaler Probanden zugrundegelegt. Die in der beschriebenen Weise nach Modus I erhaltenen Quickwerte sind in Tabelle 5 zusammengestellt. Innerhalb je einer Zeile der vier Felder der Tabelle können die Ergebnisse von A, B, C und D für je ein Plasma bzw. eine Plasmaverdünnung unmittelbar miteinander verglichen werden. Wie zu erkennen ist, muß die Übereinstimmung der Resultate von A, B, C und D für jeweils gleiche Plasmen bzw. Plasmaverdünnungen als außerordentlich schlecht bezeichnet werden. Die Va-

Tab. 5

Quickwerte nach Auswertmodus I

Die Quickwerte für die einzelnen Pl/Th-Kombinationen werden erhalten aus den zugehörigen Thromboplastinzeiten (Tab. 2), wobei als Eichkurve jeweils zugrunde liegt: für A die Kombination Pl_A/Th_A, für B Pl_B/Th_B, für C Pl_C/Th_C und für D Pl_D/Th_D; VK sind die Variationskoeffizienten für die miteinander vergleichbaren Vierergruppen

| Nr. | Plasma Pl _A | | | | VK | Plasma Pl _B | | | | VK | Plasma Pl _C | | | | VK | Plasma Pl _D | | | | VK |
|-----|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------|
| | Th _A | Th _B | Th _C | Th _D | | Th _A | Th _B | Th _C | Th _D | | Th _A | Th _B | Th _C | Th _D | | Th _A | Th _B | Th _C | Th _D | |
| 1 | 100 | — | — | 156 | 30,9 | 60 | 90 | 95 | 67 | 21,9 | 81 | — | 100 | 80 | 13,0 | 84 | 114 | 80 | 100 | 16,5 |
| 2 | 50 | 65 | 97 | 72 | 27,6 | 34 | 45 | 57 | 48 | 20,6 | 37 | 47 | 50 | 48 | 12,8 | 38 | 52 | 56 | 50 | 15,8 |
| 3 | 30 | 40 | 48 | 45 | 19,4 | 21 | 27 | 32 | 29 | 17,1 | 22 | 28 | 30 | — | 15,6 | 23 | 32 | 33 | 30 | 15,3 |
| 4 | 20 | 28 | 31 | 29 | 17,9 | 13 | 18 | 21 | 20 | 19,8 | 14 | 18 | 20 | 10 | 14,8 | 15 | 23 | 21 | 20 | 17,8 |
| 5 | 15 | 21 | 23 | 21 | 17,3 | 11 | 14 | 16 | 15 | 15,4 | 11 | 17 | 15 | 15 | 17,4 | 11 | 17 | 16 | 15 | 17,8 |
| 6 | 10 | 15 | 15 | 15 | 18,2 | 8 | 9 | 10 | 11 | 13,6 | 9 | 9 | 10 | 10 | 6,1 | 8 | 11 | — | 10 | 15,8 |
| | A | B | C | D | | A | B | C | D | | A | B | C | D | | A | B | C | D | |

Tab. 6

Quickwerte nach Auswertmodus II

Die Quickwerte für die einzelnen Pl/Th-Kombinationen werden erhalten aus den zugehörigen Thromboplastinzeiten (Tab. 2), wobei als Eichkurve jeweils zugrunde liegt: für A die Kombination Pl_A/Th_A, für B Pl_A/Th_B, für C Pl_A/Th_C und für D Pl_A/Th_D; VK sind die Variationskoeffizienten für die miteinander vergleichbaren Vierergruppen

| Nr. | Plasma Pl _A | | | | VK | Plasma Pl _B | | | | VK | Plasma Pl _C | | | | VK | Plasma Pl _D | | | | VK |
|-----|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|----|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------|
| | Th _A | Th _B | Th _C | Th _D | | Th _A | Th _B | Th _C | Th _D | | Th _A | Th _B | Th _C | Th _D | | Th _A | Th _B | Th _C | Th _D | |
| 1 | | 100 | | | | 60 | 74 | 50 | 45 | 22,3 | 81 | 107 | 52 | 57 | 34,0 | 84 | 85 | 66 | 62 | 16,1 |
| 2 | | 50 | | | | 34 | 34 | 35 | 32 | 3,7 | 37 | 36 | 35 | 32 | 6,2 | 38 | 40 | 34 | 35 | 7,5 |
| 3 | | 30 | | | | 21 | 19 | 21 | 20 | 4,7 | 22 | 21 | 19 | — | 7,4 | 23 | 24 | 21 | 22 | 5,7 |
| 4 | | 20 | | | | 13 | 14 | 14 | 14 | 3,6 | 14 | 13 | 13 | 14 | 4,3 | 15 | 16 | 15 | 14 | 5,4 |
| 5 | | 15 | | | | 11 | 9 | 11 | 10 | 9,3 | 11 | 10 | 10 | 10 | 4,9 | 11 | 11 | 11 | 9 | 9,5 |
| 6 | | 10 | | | | 8 | — | 7 | 6 | 14,3 | 9 | — | — | — | — | 8 | 8 | 6 | — | 15,7 |
| | A | B | C | D | | A | B | C | D | | A | B | C | D | | A | B | C | D | |

riationskoeffizienten der Vierergruppen liegen fast durchweg bei 15–20%. In manchen Fällen erreicht die Diskrepanz der Werte nahezu einen Faktor von 2 (z. B. bei Pl_A(₂): Quickwerte von 50–97%).

Angesichts dieser mangelhaften Übereinstimmung der Resultate gewinnt die Frage besonderes Interesse, ob mit Hilfe von Umrechnungsfaktoren identische Ergebnisse erzielt werden können. Zu diesem Zweck wurden für alle Plasmen bzw. Plasmaverdünnungen die Quotienten der Resultate je zweier „Untersucher“ gebildet. Die Streuung der so gewonnenen Faktoren um ihren Mittelwert erlaubt eine Beurteilung des Vorschlages (1), Quickwerte, die mit verschiedenen Thromboplastin-Präparaten erhalten wurden, ineinander umzurechnen. Wie sich dabei zeigte, sind diese Faktoren jedoch mit einer beträchtlichen Streuung behaftet; die Variationskoeffizienten bewegen sich in einem Bereich zwischen 10 und 16%. Ein Vergleich von Quickwerten mit Hilfe von Umrechnungsfaktoren muß folglich mit einer entsprechenden Unsicherheit belastet sein.

Auswertung nach Modus II

Für A, B, C und D soll ein Plasma, im vorliegenden Fall Pl_A, als Normalplasma verbindlich sein zur Erstellung der Eichkurve mit dem jeweils verwendeten Thromboplastin-Präparat (Pl_A/Th_A für A, Pl_A/Th_B für B usw.). Die Plasmen Pl_B, Pl_C und Pl_D sowie die zugehörigen Verdünnungen sind dann für alle „Untersucher“ jeweils Unbekannte, deren Quickwerte anhand der maßgeblichen Eichkurve zu ermitteln sind.

In Tabelle 6 sind die in der beschriebenen Weise ermittelten Resultate zusammengestellt. Auch hier müssen die Vierergruppen der einzelnen Felder in ihrer Streuung untersucht werden. Es zeigt sich dabei, daß bei

den Verdünnungen 2–5 (entsprechend 50–15%) gut übereinstimmende Werte erhalten werden, deren Variationskoeffizienten mit wenigen Ausnahmen zwischen 4 und 6% liegen. Dieser Befund steht in deutlichem Gegensatz zu den nach Auswertmodus I auftretenden Diskrepanzen.

Auffallend ist ferner die auch bei Modus II resultierende schlechte Übereinstimmung der für die unverdünnten Plasmen ermittelten Quickwerte. Dieses abweichende Verhalten der unverdünnten Plasmen bedarf näherer Betrachtung, in der eine Charakterisierung der Fehlermöglichkeiten und Fehlerbewertung der Beziehung zwischen Thromboplastinzeit und Quickwert vorzunehmen ist.

Auswirkung methodisch bedingter Zeitfehler auf die Quickwerte

Die Prothrombinzeitmessung mit der Häkchenmethode ist mit einem prinzipiellen Fehler behaftet, der durch die Frequenz f bestimmt ist, mit der das Häkchen durch das Reaktionsgemisch gezogen wird. Hat beim Durchziehen des Häkchens die Fibrinkonzentration den kritischen Wert, der zur Fädelchenbildung führt und damit, manuell oder elektromechanisch ausgelöst, die Zeitmessung beendet, eben noch nicht erreicht, so kann frühestens beim nächst folgenden Durchziehen, d. h. nach $1/f$ s, die Stoppuhr angehalten werden. Das hat zur Folge, daß die gemessene Zeit gegenüber der objektiv richtigen prinzipiell zu lang erscheint, wobei die mögliche Abweichung Δ gegeben ist durch: $0 \leq \Delta \leq 1/f$ s.

Beim Koagulometer nach SCHNITZER und GROSS, mit dem unsere Werte ermittelt wurden, beträgt die Häkchenfrequenz 2 s^{-1} , so daß die Prothrombinzeiten in unserem Fall bis zu $0,5\text{ s}$ zu lang erhalten werden. Weiterhin ist zu beachten, daß die Stoppuhren des Gerätes in $0,1\text{-s}$ -Schritten anzeigen. Somit wird der durch die Häkchenfrequenz bestimmte $0,5\text{-s}$ -Bereich in fünf Intervalle I—V unterteilt, und der Start der Reaktion bzw. der Stoppuhr ist zufallsverteilt über die fünf Intervalle des $0,5\text{-s}$ -Bereiches der Häkchenbewegung. Bei einer Einzelmessung muß demnach der Meßfehler mit gleicher Wahrscheinlichkeit $1/5$ über die fünf Intervalle I—V des genannten Bereiches 0 bis $+0,5\text{ s}$ verteilt sein.

Die Berechnungen und Auswertverfahren der vorliegenden Arbeit stützen sich auf Prothrombinzeiten, die durch Mittelwertbildung aus jeweils vier voneinander unabhängigen Einzelmessungen erhalten wurden. Alle Viererkombinationen aus den fünf Intervallen I—V sind hierbei gleich wahrscheinlich. Berücksichtigt man die bei fünf Intervallen möglichen 70 Viererkombinationen und setzt hierzu die Zahl der Kombinationen in Beziehung, deren Mittelwerte sich innerhalb bestimmter Grenzen bewegen, dann lassen sich für diese Grenzen die Vertrauenswahrscheinlichkeiten angeben (Tab. 7). Werden für die weiteren Betrachtungen mindestens die $\pm 2\text{-s}$ -Grenzen gefordert, dann ist nach Tabelle 7 der 97% -Bereich maßgebend.

Demnach werden die hier aus vier Einzelmessungen gemittelten Prothrombinzeiten mit einer Vertrauenswahrscheinlichkeit von 97% zwischen $0,125$ und $0,475\text{ s}$ gegenüber dem wahren Wert erhöht erhalten.

Tab. 7

Wahrscheinlichkeitsverteilung der Zeitmeßfehler

Δ = zeitlicher Bereich, um den der Mittelwert aus vier Einzelmessungen zu lang erscheint; z = Anzahl der zu Δ gehörigen Kombinationsmöglichkeiten bei vier Messungen und fünf möglichen Zeitintervallen I—V (s. Text); w = zugehörige Wahrscheinlichkeit für jeden Bereich

| Δ [s] | z | w [%] |
|--------------|-----|---------|
| 0,1—0,5 | 70 | 100,0 |
| 0,125—0,475 | 68 | 97,1 |
| 0,15—0,45 | 66 | 94,2 |
| 0,175—0,425 | 62 | 88,5 |
| 0,2—0,4 | 56 | 80,0 |
| 0,225—0,375 | 46 | 65,7 |
| 0,25—0,35 | 36 | 51,4 |
| 0,275—0,325 | 22 | 31,4 |

Die Zufallsverteilung der gemessenen Zeiten über den erwähnten Schwankungsbereich führt zu einer prinzipiellen Unschärfe der Quickwerte. Der Vertrauensbereich ΔQ_i für die Reproduzierbarkeit von Quickwerten in einem Labor, d. h. bei stets ein und derselben Eichkurve, ergibt sich aus der oberen und unteren Vertrauensgrenze der Prothrombinzeit Δt . Sollen die Quickwerte aus verschiedenen Laboratorien, d. h. anhand separat erstellter Eichkurven bei gleichem Eichplasma, verglichen werden, so müssen die oberen/unteren Vertrauensgrenzen der Prothrombinzeit mit der oberen/oberen Vertrauensgrenze der Eichkurve kombiniert werden, wobei der Vertrauensbereich ΔQ_e resultiert. Wird von der durch die Konstanten a und b (Tab. 3) charakterisierten Hyperbel $(\Delta t - a) \cdot N = b$ ausgegangen, die, wie oben erwähnt, die t - N -Beziehung befriedigend gut wiedergibt, dann können unter Berücksichtigung des diskutierten Zeitfehlers die 97% -Vertrauensgrenzen ΔQ_i und ΔQ_e für den internen und

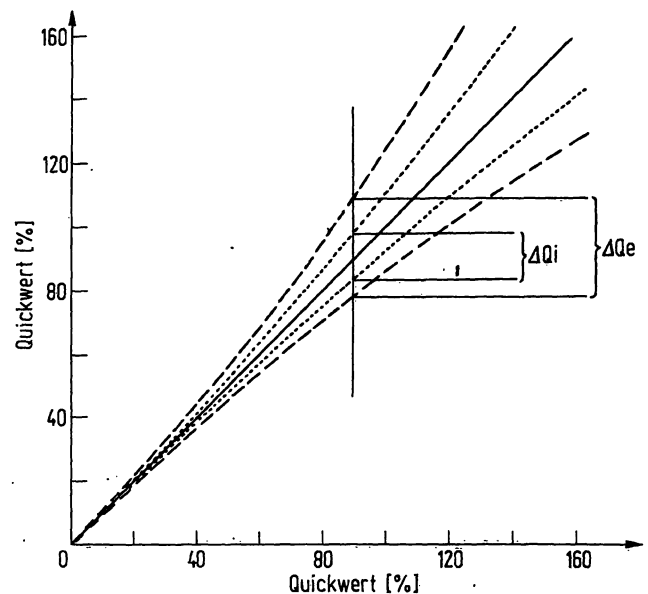


Abb. 1

Beziehung zwischen Quickwert und zugehörigem Vertrauensbereich ΔQ_i und ΔQ_e repräsentieren die Vertrauensbereiche bei der Kombination Pl_A/Th_A für den internen bzw. externen Vergleich von Quickwerten (s. Text)

externen Vergleich der Quickwerte abgeschätzt werden. Als repräsentatives Beispiel sind diese Grenzen für die Kombination Pl_A/Th_A über den ganzen Meßbereich in Abbildung 1 dargestellt. Es wird deutlich, daß sich der zu erwartende systembedingte Fehler vor allem bei Quickwerten um 100% sehr stark auswirkt. Dies ist bedingt durch die zunehmende Abflachung der Eichkurve in bezug auf die Abszisse bei höheren Quickwerten.

Es ist darauf hinzuweisen, daß mit den Vertrauensbereichen ΔQ_i und ΔQ_e die prinzipielle Charakteristik herausgestellt werden sollte, mit der sich die systembedingte Unschärfe der Zeitmessung bei Plasmen unterschiedlicher Aktivitäten auswirkt. Im Experiment werden die in Abbildung 1 dargestellten Grenzen wegen zusätzlicher Fehlerquellen nicht zu erreichen sein. Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde die effektive Zeitunschärfe für die Mittelwerte aus vier Messungen zu durchschnittlich $0,9\text{ s}$ gefunden (s. Ergebnisteil). Wird dieser Wert in der oben betrachteten Thromboplastin/Plasma-Kombination Pl_A/Th_A anstelle von $0,35\text{ s}$ berücksichtigt, dann ist für einen Nominalquickwert von 80% ein Vertrauensbereich von 59 – 124% abzuschätzen. Auch wenn eingeräumt wird, daß von Fall zu Fall, abhängig besonders von der Steilheit der Eichkurve bei hohen Quickwerten, der geschätzte Bereich großen Schwankungen unterliegen mag, so ist doch die Quickwertbestimmung für Plasmen im Normalbereich nur als halbquantitative Methode zu bezeichnen.

Zusammenfassende Diskussion

Die schlechte Übereinstimmung der Quickwerte im Auswertungsmodus I entspricht den Erfahrungen der Praxis, wenn zum gleichen Plasma die Ergebnisse mit verschiedenen Thromboplastin-Präparaten bzw. anhand verschiedener Eichkurven ermittelt werden (7, 8). Als Teilursache hierfür muß die unterschiedliche Empfindlichkeit verschiedener Thromboplastin-Präparate gegenüber den einzelnen Gerinnungsfaktoren (7) angesehen werden. Den wesentlichen Grund für die schlechten Variationskoeffizienten sehen wir jedoch in der me-

thodisch bedingten Schwierigkeit, einen Quickwert von 100% reproduzierbar festzulegen. Wie sich zeigen ließ, ist als Folge einer nicht vermeidbaren Unschärfe der Zeitmessung bei Quickwerten im Normalbereich mit sehr weit streuenden Resultaten zu rechnen. Die Sollwerte von Eichplasmen sind demnach mit einer entsprechenden Unsicherheit belastet, die in die jeweilige Eichkurve übernommen wird, da sich alle Sollwerte der Verdünnungen am Quickwert des unverdünnten Plasmas orientieren. Demzufolge sind Quickwertbestimmungen für ein Plasma anhand verschiedener Eichplasmen nach Modus I, in praxi in verschiedenen Laboratorien, indirekt mit dem prinzipiellen Fehler der 100%-Bestimmung des jeweiligen Eichplasmas behaftet. Die Variationskoeffizienten für die Werte aller Plasmaverdünnungen erweisen sich somit als gleich schlecht (Tab. 5), und verbesserte Übereinstimmung mit zunehmender Verdünnung, was nach Abbildung 1 zu erwarten wäre, ist nicht feststellbar.

Im Auswertungsmodus II sind die Voraussetzungen für übereinstimmende Resultate verbessert. Hier ist vereinbart, daß alle „Untersucher“ die Eichkurve mit demselben Plasma und ihrer jeweils bevorzugten Thrombokinasen gewinnen. Damit ist der Quickwert des unverdünnten Plasmas definitionsgemäß für alle gleich 100%, ist also frei von methodisch bedingter Streuung. Wie unsere Ergebnisse zeigen (Tab. 6), führt die Quickwertbestimmung bei diesem Vorgehen zu gut übereinstimmenden Resultaten für die Plasmaverdünnungen $N < 50\%$. Die Variationskoeffizienten in diesem Verdünnungsbereich sind also gegenüber denen nach Modus I (Tab. 5) entscheidend verbessert. Es ist jedoch besonders hervorzuheben, daß für die unverdünnten Plasmen auch hier keine Verbesserung der Vergleichbarkeit erkennbar ist. Das erscheint plausibel bei Bezugnahme auf Abbildung 1. Für unverdünnte Plasmen muß nämlich auch bei diesem Verfahren der breite Vertrauensbereich bei Quickwerten um 100% sich in hohen Variationskoeffizienten äußern. Eine Streuung für den 100%-Wert des Eichplasmas ist hier jedoch nicht gegeben und kann nicht, wie bei Modus I, in die Plasmaverdünnungen weitergetragen werden. Entsprechend der Verengung des Vertrauensbereiches bei zunehmender Verdünnung resultiert

somit eine markante Verbesserung der Übereinstimmung für niedere Quickwerte. Da die Variationskoeffizienten sich jedoch nur auf jeweils vier miteinander vergleichbare Quickwerte stützen, wird die nach Abbildung 1 zu erwartende Charakteristik, nämlich eine kontinuierliche Abnahme der Variationskoeffizienten mit zunehmendem Verdünnungsgrad, durch statistische Schwankungen überlagert. Dennoch aber sehen wir im augenfälligen Unterschied zwischen den Variationskoeffizienten der unverdünnten und verdünnten Plasmen in Modus II und im Fehlen eines solchen Unterschiedes in Modus I eine Bestätigung der Erwartung, die sich aus der Wahrscheinlichkeitsverteilung der Zeitmeßfehler ableiten läßt.

Die praktischen Folgerungen aus den diskutierten Zusammenhängen konzentrieren sich auf die Empfehlung, bei den Bestrebungen zur Standardisierung der Quickwertbestimmung der Frage des einheitlichen, für alle verbindlichen Bezugsplasmas größte Aufmerksamkeit zu widmen. Wie sich zeigen ließ, kann dann auch bei Verwendung von Thromboplastin-Präparaten unterschiedlicher Provenienz eine befriedigend gute Übereinstimmung der Resultate im therapeutisch interessanten Bereich $< 50\%$ erreicht werden. Dem Vorschlag (9), standardisierte Plasmen verbindlich zugrunde zu legen, muß demnach aus unserer Sicht der Vorzug gegeben werden gegenüber der Empfehlung, ein standardisiertes Thromboplastin-Präparat einzusetzen (8, 10), bzw. durch Kalibrierung der jeweils eingesetzten kommerziellen Thromboplastin-Präparate anhand eines standardisierten Bezugsthromboplastins (11) die Vergleichbarkeit der Quickwerte zu verbessern.

Die Einführung eines verbindlichen Bezugsplasmas und die damit verbundene Verbesserung der Resultate im Bereich $< 50\%$ kann auch für die Quickwertbestimmung im Normalbereich nutzbar gemacht werden. Die überproportionale Verbreiterung der Vertrauensgrenzen mit steigendem Quickwert (Abb. 1) empfiehlt ein Vorgehen, wobei die Bestimmung nach angemessener Verdünnung im Bereich geringerer Streuung durchgeführt und das Ergebnis anhand des Verdünnungsgrades auf das Originalplasma bezogen wird.

Literatur

1. AVERDUNK, R. & BORNER, K. (1970), diese Z. 6, 263—268. —
2. RASCHE, H. & HIEMEYER, V. (1970), *Ärzt. Lab.* 16, 133—139.
3. BIGGS, R. & MACFAIRLANE, R. G. (1949), *J. Clin. Pathol.* 2, 33—36. —
4. QUICK, A. J. (1966), *Haemorrhagic Disease and Thrombosis*, 2nd Ed., Lea and Febinger, Philadelphia. —
5. HEMKER, H. C., VELTKAMP, J. J., HENSEN, A. & LOELIGER, E. A. (1963), in: *Fibrinogen and Fibrin-Turnover of Clotting Factors*,

- (Hrsg. KOLLER, F.) Discussion 14—17, Schattauer Verlag, Stuttgart. —
6. Wissenschaftliche Tabellen, Geigy AG, 7. Auflage, Basel. —
7. MACFAIRLANE, R. G. (1963), in l. c. (5) p. 355—358. —
8. POLLER, L. (1964), *Brit. Med. J.* 565—566. —
9. MIALE, J. B. & LA FOND, D. (1969), *Amer. J. Clin. Pathol.* 52, 154—160. —
10. POLLER, L. (1967), *Lancet* I, 491—494. —
11. BIGGS, R. & DENSON, K. W. E. (1967), *Brit. Med. J.* 84—88.

Med. Ass. K. Jaroschik
Priv. Doz. Dr. S. Nägele
8700 Würzburg
Josef-Schneider-Str. 2